

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号  
特開2001-272605  
(P2001-272605A)

(43) 公開日 平成13年10月5日 (2001.10.5)

(51) IntCl.<sup>7</sup>  
G 0 2 B 21/06

識別記号

F I  
G 0 2 B 21/06

テマコード\* (参考)

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 10 頁)

(21) 出願番号 特願2001-59837(P2001-59837)  
(22) 出願日 平成13年3月5日 (2001.3.5)  
(31) 優先権主張番号 1 0 0 1 0 1 5 4 . 2  
(32) 優先日 平成12年3月3日 (2000.3.3)  
(33) 優先権主張国 ドイツ (D E)

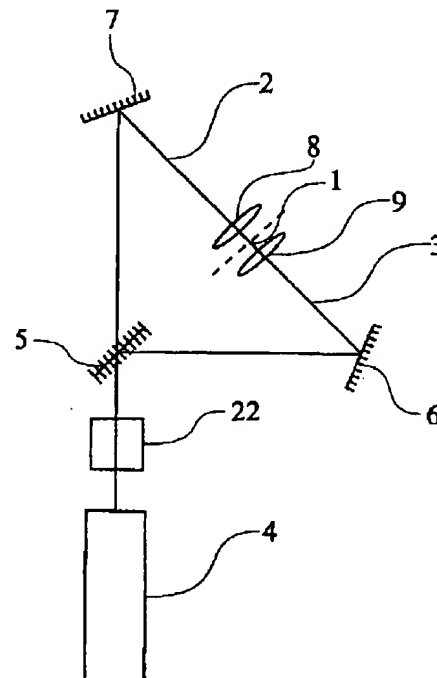
(71) 出願人 500218345  
ライカ ミクロシステムズ ハイデルベルク ゲーエムベーハー  
ドイツ連邦共和国 D-68165 マンハイム アム フリーデンプラッツ 3  
(72) 発明者 イェルク ベヴァースドルフ  
ドイツ連邦共和国 69121 ハイデルベルク ミュールタルシュトラッセ 90  
(74) 代理人 100080816  
弁理士 加藤 朝道 (外2名)

(54) 【発明の名称】 透明試料の照明方法および照明装置

(57) 【要約】

【課題】 再生法に起因する問題点を回避すること。

【解決手段】 とりわけ二重共焦点走査顕微鏡で使用するための、透明試料(1)の照明方法であって、試料(1)の点を照明するために、反対方向(2, 3)から当該点にフォーカスされる、コヒーレント光源(4)の2つの光波を1つの照明パターンに干渉させる方法において、互いに対して進行する、少なくとも2つの付加的なコヒーレント光波を重畳させ、照明パターンのサブマキシマム(11, 12)を最小化する。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 透明試料(1)の照明方法であって、試料(1)の点を照明するために、反対方向(2, 3)から当該点にフォーカスされる、コヒーレント光源(4)の2つの光波を1つの照明パターンに干渉させる照明方法において、互いに対して進行する、少なくとも2つの付加的なコヒーレント光波を重畳させ、照明パターンのサブマキシマム(11, 12)を最小化する、ことを特徴とする照明方法。

【請求項2】 照明パターンと付加的な光波との間の位相関係は調整可能である、請求項1記載の方法。

【請求項3】 付加的に重畳する照明パターンを、重畳する照明パターンの強度の少なくとも1つのマキシマムが元の照明パターンの強度の少なくとも1つのサブマキシマムと少なくともほぼ重畳されるように形成する、請求項1または2記載の方法。

【請求項4】 透明試料(1)の照明装置であって、試料(1)の点を照明するために、反対方向から当該点にフォーカスされる、コヒーレント光源の2つの光波が1つの照明パターンに干渉される形式の装置において、互いに対して進行する、少なくとも2つの付加的なコヒーレント光波が重畳され、これにより照明パターンのサブマキシマム(11, 12)を最小化する、ことを特徴とする照明装置。

【請求項5】 付加的なコヒーレント光波は、光源から放射された光を光学的装置(22)によりビーム分割することによって形成される、請求項4記載の装置。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、透明試料(標本ないし物体)の照明方法及び装置に関する。この照明方法はとりわけ二重共焦点走査顕微鏡(ラスタ顕微鏡)で使用され、試料の点を照明するために反対方向から当該点にフォーカシングされた、コヒーレント光源の2つの光波を照明パターンの形成のために干渉させる。

## 【0002】

【従来の技術】この形式の方法は、とりわけ二重共焦点走査顕微鏡で適用される。このような走査顕微鏡は例えばEP0491289A1から公知である。二重共焦点走査顕微鏡では、光源の光が2つの部分ビームに分割され、このとき各部分ビームは対物レンズによって共通の試料点にフォーカシングされる。ここで2つの対物レンズはこれらに共通の試料面の異なる側に配置されている。試料点ないし検知アパーチャ絞りにはこの干渉法的照明によって干渉パターンが形成され、この干渉パターンは構造的干渉の場合には、1つのメインマキシマムと複数のサブマキシマムを有する。サブマキシマムはここでは一般的に光軸に沿って配置されている。二重共焦点走査顕微鏡を用いると、従来の走査顕微鏡と比較して干

渉法的照明によって高い軸方向分解能を達成することができる。

## 【0003】

【発明が解決しようとする課題】二重共焦点走査顕微鏡により撮像(記録)された物体の像は基本的に第1の寄与を有し、この第1の寄与は照明パターンの第1のメインマキシマムから生じる。しかしさらに像には、照明パターンのサブ(2次)マキシマム(Nebenmaxima)による物体の照明から生じた成分が重畳されている。この障害となる像成分は適切な(波面)再生法(Rekonstruktion)により、撮像(記録)された像から後で除去することができる。ここではまず第1に、逆フィルタリング法が適用される。この逆フィルタリング法はプログラムモジュールの形態でコンピュータに体现されている。しかし再生法は、サブマキシマムの強度が照明パターンのメインマキシマムの強度と比較して明らかに50%より低いときにだけうまく適用することができる。この前提が満たされない場合には、再生された像のノイズ成分が過度に大きいか、またはサブマキシマムの寄与を完全に像から除去することができない。その結果、撮像(記録)された試料構造の「ゴースト構造」が像に残る。一義的な試料分析ないし像解釈が困難となるか、またはまったく不可能となる。

【0004】本発明の課題は、再生法に起因する問題点を回避することである。

## 【0005】

【課題を解決するための手段】本発明の第一の視点において、照明方法は上記課題を、請求項1記載の構成によって解決する。これによれば透明試料を照明するための方法は、試料の点を照明するために、反対方向から当該点にフォーカスされる、コヒーレント光源の2つの光波を1つの照明パターンに干渉させる照明方法において、互いに対して進行する、少なくとも2つの付加的なコヒーレント光波を重畳させ、照明パターンのサブマキシマムを最小化することを特徴とする。本発明の第2の視点において、透明試料の照明装置が提供される。即ち、試料の点を照明するために、反対方向から当該点にフォーカスされる、コヒーレント光源の2つの光波が1つの照明パターンに干渉される形式の照明装置において、互いに対して進行する、少なくとも2つの付加的なコヒーレント光波が重畳され、これにより照明パターンのサブマキシマムを最小化する、ことを特徴とする。付加的なコヒーレント光波は、光源から放射された光を光学的装置によりビーム分割することによって形成することができる。

## 【0006】

【発明の実施の形態】本発明によればまず、照明パターンのサブ(2次)マキシマムの強度を低減できる場合には、像再生法の結果が改善されることが認識される。サブマキシマムの強度を低減するために本発明によれば、

元の二重共焦点走査顕微鏡の照明パターンに、互いに対して進行する付加的なコヒーレント光波を重畳し、これにより元の照明パターンをこの付加的な照明パターンと干渉させるのである。このようにして1つの全体照明パターンへと干渉された電磁界分布は、適切に重畳された場合には元の照明パターンのサブマキシマムの強度より低減された強度を有し、理想的な場合には、サブマキシマムが消失する。このことによって、得られた像は有利には一義的な試料解釈を可能にし、理想的な場合には再生法の適用を省略できるほどである。

【0007】電磁波の基本的特性に基づき、照明パターンのサブマキシマムを最小にするための前提は、付加的な光波が元の照明パターンを形成する光波に対してコヒーレントなことである。さらに付加的な光波はそれぞれ互いに対して進行しなければならず、これにより付加的な光波はそれ自体で見て、元の照明パターンに重畳することのできる干渉パターンを同様に形成する。付加的な光波がそれら自身で干渉できる場合だけ、付加的な照明パターンは、元の照明パターンと比肩し得るような解像度レベルを有する照明構造を有する。

【0008】特に有利な実施形態では、照明パターンと付加的な光波との間の位相関係を調整可能とする。この場合、元の照明パターンと付加的に重畳する全光波との位相関係も調整することができる。したがって、付加的に重畳する光波によって形成された付加的な照明パターンを全体として、元の照明パターンに対して相対的に変化させることができる。さらに付加的な光波相互間の位相関係だけを変化させることもでき、これにより元の照明パターンに重畳する付加的な照明パターンだけを変化できる。このことによって、全体照明パターンを様々な変更することが達成される。

【0009】電磁界強度が元の照明パターンのサブマキシマムの個所で、付加的に重畳される照明パターンの電磁界強度に対して対抗するもの（逆傾向）であれば、有利に、生じる照明強度が低減される。理想的にはこの条件が元の照明パターンの全てのサブマキシマムに対して満たされるように努める。このように重畳する照明パターンは異なる（±）符号を有しており、したがってサブマキシマムを低減し、理想的な場合には消滅させることができる。

【0010】元の照明パターンのサブマキシマムは特に有利には、照明パターンの電磁界強度がサブマキシマムの個所で、重畳する光波の電磁界強度に相当する値を有すると、消滅させることができる。ただし前提として、元の照明パターンの電磁界強度と付加的に重畳された照明パターンの電磁界強度とは、サブマキシマムの個所で異なる符号を有するものとする。したがって照明パターンの電磁界強度がサブマキシマムの個所で、重畳する光波の電磁界強度に絶対値としてほぼ相当すれば、それだけでサブマキシマムの強度が格段に低減される。付加的

に重畳する光波の強度を適切に選択することによって、重畳する光波の電磁界強度が調整される。このために一般的には付加的な光波の強度が、照明に用いる光波の強度よりも小さくまたは大きく選択される。しかし付加的な光波の強度が照明に用いる光波の強度に等しく選択されていると特に有利である。

【0011】元の照明パターンのサブマキシマムを最小にするために種々異なる複数の変形構成がある。しかし全ての変形構成において共通なのは、試料点の元の照明を2つの反対方向から行い、そのために使用されるコヒーレントな光波は共通の点にフォーカスされることである。

【0012】第1の変形構成では、互いに対して進行する付加的なコヒーレント光波は試料領域で視準化（コリメート）されて延在する。

【0013】第2の変形構成では、付加的にコヒーレントに重畳された光波が試料領域で1つの点にフォーカスされる。

【0014】第3の変形構成では、元の照明パターンを形成するための光の強度および／または付加的に重畳する光波の強度が時間的に変調される。ここでは、付加的に重畳する光波が試料領域で視準化されるか、または1つの点にフォーカスされることも考えられる。

【0015】第1の変形構成では、付加的にコヒーレントに重畳される光波が試料領域で視準化される。すなわち、互いに対して進行する光波は試料領域で平行のビーム形状を有する。これらの光波を重畳することにより付加的な照明パターンが得られ、この照明パターンは元の照明パターンに重畳することができる。この付加的な照明パターンはマキシマムとミニマムを交互に有し、これらはそれぞれ1つの面にあり、この面は光軸に対して垂直である。この付加的な照明パターンの隣接する2つのマキシマムの間隔は、互いに対して進行する2つの光波の交差角を変化することによって調整される。ここで2つの光波が精確に反対方向に延在する、すなわち交差角が0°ないし180°であるときに、隣接する2つのマキシマムの間隔は最小となる。

【0016】視準化されて延在する2つの光波の交差角を調整することによって、付加的な照明パターンを次のように形成することができる。すなわち、付加的な照明パターンの少なくとも1つのマキシマムが元の照明パターンの少なくとも1つのサブマキシマムと少なくともほぼ重畳されるように形成することができる。ここで理想的には付加的な照明パターンの電磁界強度を次のように選択する。すなわち、これが元の照明パターンのサブマキシマムの個所で異なる符号を有し、さらに絶対値が少なくともほぼ等しいように選択する。このことにより元の照明パターンのサブマキシマムを消滅させることができる。

【0017】特に有利には付加的な照明パターンを次の

ように形成する。すなわち、付加的な照明パターンの隣接する2つのマキシマムが、元の照明パターンのメインマキシマムに隣接する2つのサブマキシマムと少なくともほぼ重畳されるように形成する。このようにして付加的な照明パターンの隣接する2つのマキシマムの間隔が、元の照明パターンのメインマキシマムに隣接する2つのサブマキシマムの間隔に等しくなる。このことによって特に有利には、元の照明パターンの2つのサブマキシマムだけを低減ないし消滅させることができる。(図2A, B, 及び図3C, D参照) この2つのサブマキシマムが(サブマキシマムの中で)最大の強度を有しており、したがって最大の障害寄与を生じさせるのである。

【0018】第2の変形構成は、付加的にコヒーレントに重畳する光波を試料領域の1つの共通の点にフォーカスすることを特徴とする。ここではそれぞれ互いに対して進行する2つのコヒーレント光波が1つの共通の点にフォーカスされる。

【0019】特に有利には元の照明パターンを付加的に重畳する光波の照明パターンに対して相対的に次のようにシフトすることができる。すなわち、それらのサブマキシマムだけが少なくともほぼ(大部分)重畳するようにシフトすることができる。このようなシフトは一般的には軸方向のシフトである。すなわち光軸に沿ったシフトである。理想的には元の照明パターンの第1のサブマキシマムを、付加的に重畳する光波の照明パターンの第1のサブマキシマムと重畳させることができる。したがって元の照明パターンのメインマキシマムは付加的な照明パターンのメインマキシマムに対して光軸方向にシフトされることになる。

【0020】あるいはまた、2つの照明パターンを次のようにシフトすることができる。すなわち、付加的に重畳する光波の照明パターンのメインマキシマムが元の照明パターンのサブマキシマムと少なくともほぼ(大部分)重畳されるようにシフトすることができる。この際付加的に重畳された光波の照明パターンのメインマキシマムを、元の照明パターンのメインマキシマムに隣接するサブマキシマムに重畳することができる。

【0021】理想的な場合には、元の照明パターンの各サブマキシマムに対してそれぞれ1つの付加的な照明パターンを設け、この付加的な照明パターンをそれぞれ付加的に重畳する光波によって形成するのである。このためにも、位相状態ないし電磁界強度を少なくとも、元の照明パターンのメインマキシマムに隣接するサブマキシマムの個所で次のように調整する。すなわちとりわけこれらのサブマキシマムが最小化されるか、ないしは消滅されるように調整する。

【0022】付加的なコヒーレント光波は、照明ビーム路の少なくとも1つのフーリエ面で変調および/またはフィルタリングすることによって重畳できる。変調および/またはフィルタリングは位相プレートおよび/また

は振幅プレートによって行うことができる。このために例えば相応の位相プレートないし振幅プレートが共通の照明ビーム路中のフーリエ面に配置される。2つの位相プレートないし振幅プレートを分割された二重焦点走査顕微鏡照明ビーム路のそれぞれのフーリエ面に配置することも同様に考えられよう。

【0023】位相プレートおよび/または振幅プレートは単に照明ビームの一部ないし部分にだけ作用するが、作用を照明ビーム全体に及ぼすことも同様に考えられる。このような位相プレートおよび/または振幅プレートは、 $\lambda/4$ プレート、少なくとも部分的にグレー値フィルタ(ニュートラル減衰フィルタ)として構成されたプレートの形態で、または部分的に反射性のプレートとして構成することができる。

【0024】第3の変形形態では、元の照明パターンを形成するための光の強度および/または付加的に重畳する光波の強度を時間的に変調する。この変形形態は特に、蛍光マーカによってマーキングされた試料を検知する際に有利である。特に有利には、元の照明パターンを形成するための光の強度と付加的に重畳する光波の強度とを時間的に変調する。強度変調はさらに時間的に相互にずらすことができる。それぞれの照明条件を最適化するためにこの時間的ずれを調整することができる。

【0025】強度変調は矩形形状、鋸歯形状、三角形形状またはパルス形状を有することができる。あるいはまた、パルス制御された光を放射する光源を使用することができる。これにより、照明光の強度変調を得ることができる。

【0026】元の照明パターンを形成するための光の強度変調および/または付加的に重畳する光波の強度変調を検知システムと同期させることができる。このようにして例えば検知器は所定の時間インターバルで、または時間的に強度変調に依存する時間インターバルで試料光を検知し、ないしこれを二重共焦点走査顕微鏡の評価システムへさらに送出することができる。

【0027】全ての変形形態は蛍光マーカによってマーキングされた試料(ないし標本)を励起するのに使用することができる。ここでは蛍光励起をシングルフォトン励起および/またはマルチフォトン励起により行うことができる。とりわけシングルフォトン励起の場合は、使用される蛍光マーカが早期に退色することを十分に阻止する事前措置を取るべきである。なぜなら蛍光マーカには、照明パターン全体の照明の間にますます光が印加されるからである。特に有利には、蛍光発光性のナノクリスタルを蛍光マーカとして使用することができる。なぜならこれは殆ど退色しないからである。

【0028】装置的观点では、冒頭に述べた課題は請求項4の構成によって、とりわけ請求項1から3までのいずれか1項の方法を実施するための構成によって解決される。これによれば、透明試料を照明するためのこのよ

うな装置は、互いに対して進行する少なくとも2つのコヒーレント光波が、照明パターンサブマキシマムを最小にするため重畳可能であることを特徴とする。

【0029】付加的なコヒーレント光波は装置において、光源から放射された光をビーム分割することによって形成される。このビーム分割は次のような光学的装置によって実現される。すなわち、光源から到来した光の少なくとも一部を透過し、残りの部分を反射する装置によって実現される。ここで反射された成分は透過された成分に重畳される。光学的装置で多重反射させることも同様に考えられる。有利には光学的装置は発散性に延在する照明ビーム路中に配置される。

【0030】具体的な実施形態では、光学的装置は反射プレートとして構成される。ここでは平行六面体形状に構成され、その表面が光軸に対して垂直に配向されたガラスプレートとすることができる。光源から到来した光は反射プレートを通過し、その一部は内部反射に基づいて2回反射され、それから光のこの成分は反射プレートを去る。光の多重反射された成分はここでは付加的なコヒーレント光波として光の透過成分に重畳される。

【0031】特に有利には、反射プレートは統合された、くさび状の2つの光学的構成部材を有する。これら2つの構成部材は光軸に対して横方向に相互にシフトすることができる。これにより、生じるプレートの厚さを調整することができる。2つの構成部材のくさび角が小さければ、すなわち構成部材の一方の表面が構成部材の他方の表面に対して非常に小さな傾斜角を有していれば、生じるプレートの厚さを非常に鋭敏に変化することができる。2つの構成部材の向き合った側の間には光学的媒体、例えば適切な屈折率を有する浸漬オイルを設けることができる。

【0032】付加的に重畳された照明パターンに対する元の照明パターンの必要な軸方向変位に依存して、反射プレートの厚さが決められる。二重共焦点走査顕微鏡において従来の顕微鏡対物レンズが使用される場合、軸方向変位 $\sigma z$ は反射プレートの厚さ $Z$ 、および顕微鏡対物レンズの倍率 $M$ と次の関係を有する： $Z = 0.5 * M^2 * \sigma z$  個々の光波の所要の強度比を調整するために、光学的装置は相応の被覆部を有する。この被覆部によって反射プレートの光学的に作用する表面の透過力ないし反射力を調整することができる。理想的には、多重反射された光は直接透過された光に対して所定の強度比を有し、これにより照明パターンの電磁界強度がサブマキシマムの個所で、重畳された光波の電磁界強度に大きさ（絶対値）において少なくとも近似的に相応するようにする。

【0033】有利な一実施形態では、光学的装置はビームスプリッタプレートとミラーとを有する。光学的装置のビームスプリッタプレートは被覆部を有し、この被覆部は光波の所要の強度比を形成する。最終的には、重畳

する光波に対する元の光波の所要の強度比は、ビームスプリッタプレートを適切に被覆することによって調整できる。透過力ないし反射力を特徴付けるビームスプリッタプレートの被覆は、光学的装置の各ビームスプリッタプレートごとに個別に異なって構成することができる。

【0034】特に有利には、光学的装置の個々の構成部材を相応に位置決めすることによって、強度変調される光波の時間的ずれを調整することができる。とりわけパルス制御される光波を取り扱うことができる場合には、反射なしで通過する光ビームと単純反射ないし多重反射される光ビームとの時間的ずれを、光学的装置の付加的な光学経路によって相応に調整することができる。

【0035】光学的装置全体は、横方向および/または軸方向に照明ビーム路に対して相対的に調整可能であるよう配置することができる。光学的装置の位置を变化することによって、付加的照明パターンを元の照明パターンに対して横方向および/または軸方向にシフトすることができる。さらに光学的装置の個々の要素ないし構成部材も横方向および/または軸方向に調整することができる。このことによりまず第1に、付加的照明パターンの空間的構造を变化させ、強度変調された光波の時間的ずれを、伝搬時間差を介して調整することができる。

【0036】本発明の技術思想を有利に構成および改善するには種々の手段がある。これについては一方では請求項1および4の従属請求項を、他方では図面に基づく本発明の有利な実施例についての以下の説明を参照されたい。図面に基づく本発明の有利な実施例についての説明と関連して、本技術思想の一般的に有利な構成および改善形態も説明される。

【0037】

【実施例】図1は、透明試料1を二重共焦点走査顕微鏡によって照明するための方法を実施する装置を示す。ここでは試料1の点を照明するために、反対方向2、3からこの点にフォーカスされる、コヒーレント光源4の2つの光波が1つの照明パターンに干渉される。2つの光波はビームスプリッタ5によって2つの部分ビームに分割される。これらの部分ビームはそれぞれミラー6、7によって、これらが反対方向からそれぞれ対物レンズ8、9を通過するように反射される。対物レンズ8、9は2つの分割された光波を共通の点にフォーカスする。この共通の点には二重共焦点走査顕微鏡の照明パターンが結像され、この照明パターンは2つの対物レンズ8、9間にもたらされた透明試料を照明する。

【0038】以下本発明の方法の2つの変形実施例を例として説明するために図2Aから図3Dを参照する。そこに示された線図では横軸に光軸方向の位置座標がプロットされており、縦軸に電磁界強度がプロットされている。図2Aから図3Dに示された線図の横軸は同じ縮尺を有し、同じ領域にわたって伸張している。この領域は照明光の波長の単位で示されている。

【0039】図2Aは、二重共焦点走査顕微鏡における典型的な照明パターンを、焦点の側方座標(位置)において光軸に沿って示す。この照明パターンは焦点面に対して対称に構成される。焦点面はこの線図では横軸座標0にある。照明パターンのメインマキシマム10も同様に横軸座標0に有る。次のサブマキシマム11, 12はメインマキシマムからほぼ半波長だけ離れて配置されている。ここで図2Aに示された線図では、電磁界強度が2つのサブマキシマム11, 12の個所で負の値を有している。次のサブマキシマム13, 14は焦点面から約1波長だけ離れている。図2Aに示された電磁界強度の照明パターンの強度分布は、この曲線形状の(絶対)値を二乗することによって得られる。

【0040】本発明では、図2Aに示された照明パターンに付加的照明パターンが重畳される。この付加的照明パターンは、互いに対して進行する2つの付加的なコヒーレント光波によって形成される。付加的照明パターンの電磁界分布が図2Bに示されている。元の照明パターンと付加的照明パターンないしその光波との位相関係は次のように調整される。すなわち、照明パターンの電磁界強度が反対方向に形成されるように調整される。具体的には元の照明パターンの電磁界強度はサブマキシマム11の個所で、図2Aからわかるように約-0.4の値を有する。これに対し付加的照明パターンのメインマキシマム15はサブマキシマム11の個所で、図2Bからわかるように約0.4の値に相応する電磁界強度を有する。したがって重畳する付加的照明パターンの電磁界強度はサブマキシマム11の個所では絶対値としてほぼ等しい。

【0041】図2Bに示された付加的照明パターンは、図2Aに示された元の照明パターンに対して次のようにシフトされている。すなわち付加的照明パターンのメインマキシマム15が元の照明パターンのサブマキシマム11に重畳されるようにシフトされている。付加的照明パターンのサブマキシマム17は横軸座標0に有る。

【0042】図3Cには別の照明パターンが示されており、この照明パターンは図2Aと図2Bに示された2つの照明パターンに重畳される。図3Cの照明パターンはメインマキシマム16を有し、このメインマキシマム16は元の照明パターンのサブマキシマム12の個所に配置されている。付加的照明パターンのサブマキシマム18は横軸座標0を有している。したがって元の照明パターンの2つのサブマキシマム11, 12の各々に対して、それぞれ1つの付加的照明パターンが光波の付加的重畳によって形成される。

【0043】図3Dには、3つの重畳された照明パターンの電磁界強度が示されている。得られた照明パターンは焦点面の個所にメインマキシマム19を有する。メインマキシマム19には2つの別のマキシマム20, 21が隣接している。しかし別のマキシマム20, 21は焦

点面からさらに離れている。すなわち使用された光の約1波長だけ十分に離れている。しかし二重共焦点走査顕微鏡は軸方向には焦点面を中心に約 $\pm \lambda/2$ の領域しか検知できないから、付加的マキシマム20, 21の寄与(影響)は検知ピンホールによってフェードアウト(除去)される。得られた照明パターンのメインマキシマム19は、元の照明パターンのメインマキシマム10とはほぼ同じ幅を有している(縦軸0での横軸との交点参照)。したがってこの変形実施例は、サブマキシマム11, 12の障害となる寄与なしには実現不可能であったような軸方向分解能を提供する。

【0044】装置実施例の観点からは、付加的に互いに対して(向って)進行するコヒーレント光波は図1に示した光学的装置22によって形成される。図4は光学的装置22の第1実施例を示し、この装置は付加的コヒーレント光波を、光源4から放射される光のビーム分割によって形成する。ここでは光学的装置22によってビーム分割が透過と多重反射の結合によって行われる。構成部材の相応の構成ないし絞りの配置によって、高次の多重反射を回避することができる。光学的装置22は発散性に延在する照明ビーム路中に配置される。図4は、元の光ビーム23, 24が焦点25から発散していることを示している。2つの光ビーム23, 24は、光源から放射された光の外側ビームないし包絡ビームを示す。光学的装置22は反射プレートとして構成されており、この反射プレートは統合されたくさび状の2つの光学的構成部材26, 27からなる。2つのくさび状反射プレート26, 27の間には浸漬オイルが詰め込まれており、この浸漬オイルは両方の反射プレート26, 27の屈折率に相応する屈折率を有する。光学的構成部材26, 27は相互に摺動可能に配置されている。これにより反射プレートの有効厚さ28を調整することができる。付加的な光波29, 30は内部反射によって、統合された反射プレート内で形成される。

【0045】図5は光学的装置22の他の一実施例を示す。この光学的装置はビームスプリッタ31, 32, 33, 34およびミラー35, 36からなる。この光学的構成も発散性に延在するビーム路中に配置されている。焦点25から発散して延在する光ビーム23, 24は一部が第1のビームスプリッタ31により反射され、残りの一部がこれを透過する。反射された成分はビームスプリッタ32に当たり、これが再び光ビームの一部を反射し、一部を透過させる。透過された成分はミラー35と36によって反射される。ビームスプリッタ33は2つの光ビームを1つにまとめる。すなわちビームスプリッタ32の反射成分と、ミラー36から到来する光ビームとを1つにまとめる。まとめられた光ビームはビームスプリッタ34によって、ビームスプリッタ31の透過成分に重畳される。

【0046】ビームスプリッタ31, 32, 33, 34

## 11

は被覆部（コーティング）を有し、この被覆部は重畳すべき光波の所要の強度分布を形成する。同じことが図4の統合された反射プレート26、27の2つの表面37、38に対しても当てはまる。

【0047】図4と図5の光学的装置は全体として方向39と40に沿い、照明ビーム路ないし光軸41に対して相対的に調整することができる。光学的装置22全体を矢印方向39に沿って調整することにより、付加的に重畳される照明パターンは軸方向変位を変化させることができる。

【0048】図4に示された反射プレートの2つのくさび状構成部材26、27は相互に向き合い、矢印方向42に沿って摺動可能に配置されている。図5の光学的装置22の部材も矢印方向42に沿って調整することができる。ここでは2つのミラー35、36または2つのビームスプリッタプレート32、33をペアで方向42に沿って調整することができる。これにより特に有利には、付加的に重畳される光波の伝搬時間差（光路差）を第3の変形構成でも相応の調整することができる。

【0049】

【発明の効果】本願発明により、再生法に起因する問題を回避した照明方法及び装置が得られる。即ち、再生された像のノイズ成分ないしサブ（2次）マキシマムの妨害的影響を、除去ないし本質的に軽減する。しかも、本願発明の装置は、これを簡単な手段を介して実現する。さらに、本願発明は、本願発明を実施する上で各種のバリエーションが可能である。

【図面の簡単な説明】

【図1】二重共焦点走査顕微鏡のビーム路の概略図である。

【図2】（A）元の照明パターンの電磁界強度を光軸の関数として示す線図である。

（B）第1の付加的な照明パターンの電磁界強度を光軸の関数として示す線図である。

【図3】（C）別の付加的に重畳された照明パターンの電磁界強度を光軸の関数として示す線図である。

（D）得られた電磁界強度を光軸の関数として示す線図である。

【図4】反射プレートとして構成された光学的装置の概略図である。

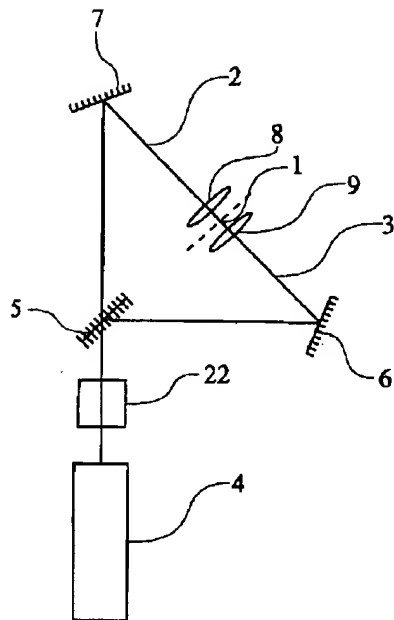
## 12

【図5】ビームスプリッタおよびミラーから構成された光学的装置の概略図である。

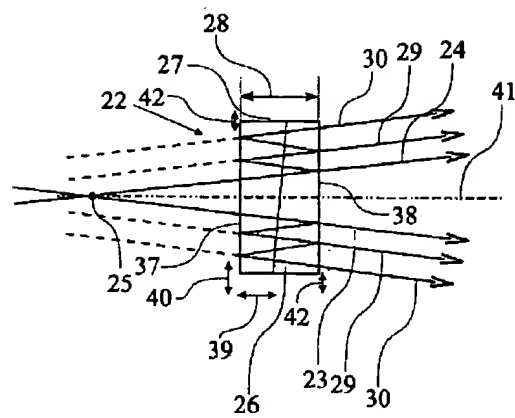
【符号の説明】

- 1 試料
- 2 一方の方向の部分ビーム
- 3 反対方向の部分ビーム
- 4 光波
- 5 ビームスプリッタ
- 6 ミラー
- 7 ミラー
- 8 対物レンズ
- 9 対物レンズ
- 10 元の照明パターンのメインマキシマム
- 11 (10)に対する第1のサブマキシマム
- 12 (10)に対する第1のサブマキシマム
- 13 (10)に対する第2のサブマキシマム
- 14 (10)に対する第2のサブマキシマム
- 15 付加的照明パターンのメインマキシマム
- 16 第2の付加的照明パターンのメインマキシマム
- 17 (15)に対するサブマキシマム
- 18 (17)に対するサブマキシマム
- 19 得られた照明パターンのメインマキシマム
- 20 (19)に対するサブマキシマム
- 21 (19)に対するサブマキシマム
- 22 光学的装置
- 23 元の光ビーム
- 24 元の光ビーム
- 25 焦点
- 26 くさび状反射プレート
- 27 くさび状反射プレート
- 28 (26、27)の厚さ
- 29 付加的な光波
- 30 付加的な光波
- 31、32、33、34 (22)のビームスプリッタ
- 35、36 (22)のミラー
- 37、38 (26、27)の表面
- 39、40 (22)の運動方向
- 41 光軸
- 42 (26、27)の調整方向

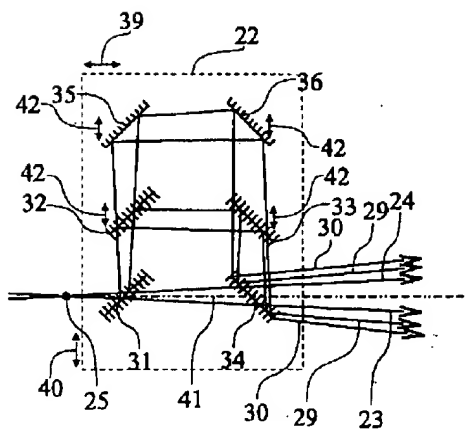
【図1】



【図4】

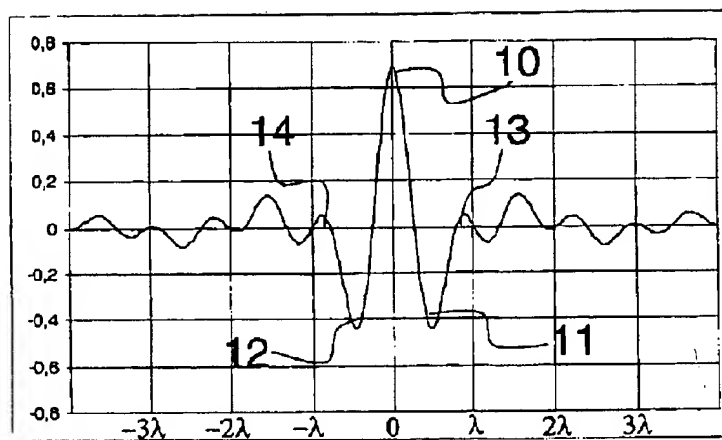


【図5】

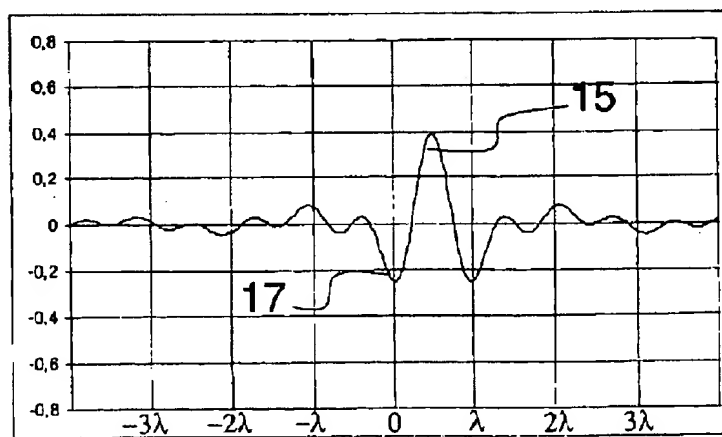


【図2】

(A)

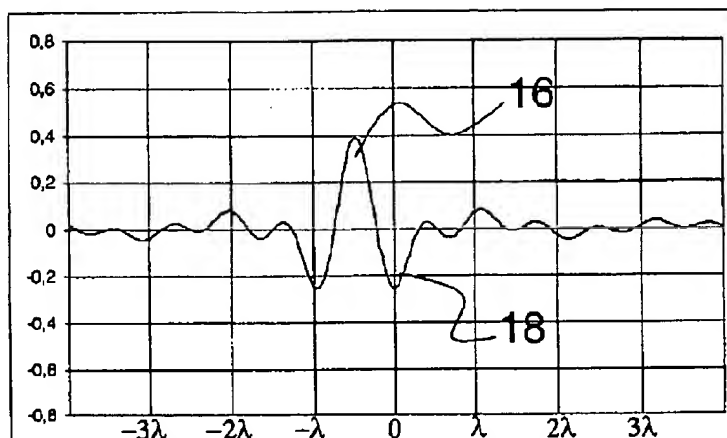


(B)



【図3】

(C)



(D)

